第31卷 第2期　　昆 虫 学 报　　Vol. 31, No. 2
1988 年 5 月　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　May, 1988

小地老虎变态期脂肪体变化及保幼激素类似物的影响*

陈长琨　王荫长　尤子平
（南京农业大学植保系，南京）

摘要　本文对小地老虎 *Agrotis ypsilon* (Rottemberg) 从四龄幼虫开始经预蛹和蛹的变态期及羽化为成虫后的脂肪体出现的超微结构变化，蛋白质含量的变动，以及蛋白质颗粒的形成和消失过程，进行了系统观察和组织化学分析。结果表明：(1) 在幼虫期的后期，脂肪体扩大成宽带状，细胞体积增大的同时出现双核和多核。进入预蛹期，细胞内开始出现嗜碱性"蛋白质颗粒"，血细胞吞噬部分脂肪体细胞。蛹龄一天时，脂肪体转变成块状，细胞内充满大型蛋白质颗粒。在蛹龄 5—10 天内，"幼虫脂肪体"逐步崩解，围膜及细胞膜消失。至蛹龄 12 天时转变为预成虫，脂肪体细胞重新出现，并以气管分支为中心聚合成花朵状圆球体，再组成串状"成虫脂肪体"，仍充满蛋白质颗粒。幼虫期发达的粗面内质网和线粒体，至预蛹期则衰变成几种类型的蛋白质颗粒。(2) 六龄幼虫在 1—5 日龄期间，每克脂肪体的蛋白质含量稳定在 7.1—8.4 毫克之间，随后逐步升高，至预蛹期达 16.3 毫克的峰值。蛹初期，雄蛹和雌蛹的含量分别增高到预蛹期的 1.63 和 2.4 倍，但在蛹龄 2—8 天内迅速下降到六龄幼虫期的水平。至蛹龄 9—13 天时间（包括预成虫），含量又突然猛增，雌蛹尤为显著。蛹期脂肪体细胞充满着的几种蛋白质颗粒，在羽化为成虫后的 24 小时内全部消失。在六龄幼虫期用保幼激素类似物 ZR-515 (20 微克) 作体壁处理，可使幼虫期延长 4 天，并使九日龄幼虫的脂肪体仍保持幼虫型状态。

关键词　小地老虎　脂肪体　蛋白质颗粒　超微结构

脂肪体是昆虫生长发育和变态期糖类、蛋白质、脂类等化合物进行生物合成和代谢转化，以及激素和外源物质包括进入虫体的化学药剂进行降解和解毒的一个重要器官。在全变态昆虫的胚后发育过程中，脂肪体合成的各种蛋白质不断地释放到血淋巴中，供组建新组织和新结构之用。例如，供应组建体壁表皮层的各类蛋白质，供应卵母细胞沉积卵黄的卵黄原蛋白，以及形成卵壳的蛋白质等，以致血淋巴中蛋白质含量出现不断增加和变动的现象 (Keeley, 1978; Wyatt & Pan, 1978)。至预蛹期及蛹期，由于幼虫组织在变态过程中进行解离而释放出蛋白质，此时的"幼虫脂肪体"又从血淋巴中吸取这些蛋白质，并以某种形式的蛋白质颗粒进行贮存 (Collins, 1970、1974; Thomasson & Mitchell, 1972)。随着变态的进程，幼虫型脂肪体在解剖学和组织学上也出现了一系列的变化，最后改变成为"成虫脂肪体"。Wigglesworth (1972) 及 Locke 等 (1965—1968) 对吸血蝽、家蚕及弄蝶等昆虫，都曾进行过研究和综述。鉴于昆虫的脂肪体与卵巢发育的进程及蛋白质的动态变化，对研究昆虫的迁飞、滞育、生殖、抗药性等生理生化机制，有十分密切的关系，本文以小地老虎为对象研究了幼虫期、预蛹期、蛹期、预成虫期和成虫期脂肪体的形态和组织学变化，并对各虫期的蛋白质含量和蛋白质颗粒的形成及结构，进行了测定和

本文于 1986 年 4 月收到。
* 本课题是国家科学基金资助项目之一。 电镜照片由席庆奎拍摄，特此感谢。

系统观察。同时还对保幼激素类似物 ZR-515 对幼虫脂肪体的影响,进行了测试。

材料和方法

一、供试昆虫的饲养

1983—1985 年春季以采自南京卫岗及江浦农场的那块在养虫室内逐代连续饲养。幼虫四龄以前,用天然饲料饲食;四龄以后,用半人工饲料饲育,末龄幼虫移至锯木屑内化蛹;成虫羽化后喂以 10% 蔗糖水。养虫室温度在 18—25℃ 之间,每日光照 10 小时,黑暗 14 小时。

二、脂肪体蛋白质含量的测定

(一) 样品制备 采用藤条纯夫(1980)方法。在生理盐水中(含 NaCl 0.14M 的 0.01M 磷酸盐缓冲液, pH7.0)解剖出各虫期脂肪体,用吸水纸吸水分,称重,加生理盐水研磨后在 10,000 转/分钟下进行冷冻离心 20 分钟,取脂肪层下面的上清液作测定。

(二) 测定方法 采用 Lowry(1951) 的 Folin 酚试剂分析法,牛血清作标准蛋白。

三、光镜观察

将不同发育期的小地老虎,移入 Bouin's 液固定。用酒精逐级脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,切片厚约 5—7 微米,再用苏木精-伊红双染。糖蛋白用高碘酸席夫氏反应 (PAS test) 测试。取靠近中肠中段附近的脂肪体进行组织学变化的比较观察,并拍照。

四、电镜观察

试虫经活体解剖取出脂肪体,置于 2% 戊二醛及 1% 锇酸双固定, Epon-812 包埋,超薄切片厚度为 50nm; 再用柠檬酸铅和醋酸铀染色后,在 JEM-100II 型透射电镜下观察和拍照。

试验结果

一、变态期间脂肪体形态和细胞变化

(一) 形态变化 幼虫期的脂肪体为白色、半透明的片层结构。细胞柱形紧密排列成带状,至五龄末期细胞内出现双核和多核(见图版 I: 1、2)。至预蛹期,片层数量增多,呈不透明状态并变厚;细胞内出现嗜碱性蛋白质颗粒(见图版 I: 4)。至蛹前期,脂肪体发生较大的变化:蛹龄一天时,脂肪体由带状转变成块状,细胞内含有大而密的蛋白质颗粒;蛹龄五天时,脂肪体围膜及细胞膜均消失;蛹龄十天时,脂肪体崩解(见图版 I: 5、6、7),血淋巴中充满脂肪的碎片,使血淋巴由原来的黄色透明液变成乳白混浊液,至蛹后期又恢复到透明状态。进入预成虫期后,脂肪体细胞以气管为中心集聚成圆球体,呈乳黄色,并充满蛋白质颗粒,雌成虫更为明显(见图版 I: 8)。随着新生气管的生长,圆球体连接成串,组成成虫的脂肪体。

(二) 细胞变化 幼虫期的脂肪体虽分布在整个血腔,但主要集中在腹腔中,并以消化道附近较多。脂肪体表面围有一层结缔组织的围膜。体壁皮细胞层下的脂肪体与围脏脂肪体并无明显区分,但后者的细胞内含物多于前者。各虫期的变化如下:

1. 幼虫期: 从三龄到六龄,脂肪体细胞一般呈长方柱形,紧密排列成带状(见图版 I: 1、2、3),细胞质嗜碱性,细胞核呈圆形或椭圆形。在幼虫生长过程中,细胞体积不断增

大，横切面的平均面积由六龄初期 378μm^2，至末期突然增大到 1222μm^2，是初期的 3.2 倍，而是三龄期的 4.4 倍。细胞核的分裂主要在五龄到六龄初期进行，此时，脂肪体细胞内出现双核和多核(见图版 I: 2)。

2. 预蛹期：脂肪体细胞横切面的面积增大到 1,344 μm^2，比六龄末期约扩大 10%。细胞核伸长，出现分枝状的异固缩染色质，并有嗜碱性的微粒围绕在周围，核膜模糊不清；细胞质由嗜碱性转变为嗜酸性。此时，脂肪体细胞集聚成团，围膜仍清晰可辨，但细胞膜部分消失，位于皮细胞层下的脂肪体更为显著。在这一阶段最显著的变化是，在细胞内出现较多的嗜碱性蛋白质颗粒。用席夫氏试剂染色，部分颗粒呈阳性反应，说明其中含有糖蛋白(见图版 I: 4)。同时还可观察到细胞内出现较多的尿酸颗粒，说明正在进行蛋白质的转化和贮存代谢。

3. 蛹期和预成虫期：小地老虎的蛹期共 14 天，其中包括最后 1—2 天的预成虫期，在蛹期的前 10 天内，"幼虫脂肪体"进行解离和自溶，经过的程序如下：蛹期的第一天(见图版 I: 5)，脂肪体呈块状，围膜完整，细胞大多集聚成团，充满蛋白质颗粒，细胞膜大部分消失，仅有极少数细胞有核存在；至第五天(见图版 I: 6)，脂肪体围膜破裂，部分细胞解离成游离的单个细胞，细胞膜消失，但大部分蛋白质颗粒仍集聚成团并保持在原来部位，仅少数蛋白质颗粒和尿酸颗粒扩散到血淋巴中。此时，可见到大量浆血细胞和颗粒血细胞群集在脂肪体的外围，吞噬破碎的脂肪体组织。至蛹龄 10 天时，脂肪体和细胞进一步崩解(见图版 I: 7)，随后，"成虫脂肪体"的雏形逐步形成。至预成虫期，脂肪体细胞以气管分支作核心首先排成圆形花朵状，并出现围膜，但不明显，细胞内仍充满蛋白质颗粒(见图 I: 8)。雌性预成虫含有的蛋白质颗粒明显多于雄性。

4. 成虫期：脂肪体细胞组成明显的成虫型脂肪体，细胞膜清晰可见，核明显，并以气管分支为核心排列成圆形或椭圆形花朵状，围膜也清晰可辨(见图版 I: 9)。这一时期最显著的一个特点是：当预成虫羽化为成虫后，脂肪体内充满的蛋白质颗粒在 24 小时内全部消失。羽化后一天的成虫，雌蛾和雄蛾的脂肪体细胞即有明显的差别，雌蛾的细胞核呈圆形，核膜清晰，着色较浅，细胞质稠密；雄蛾的细胞核呈梭形或多角形，核周围有一些嗜碱性的染色质，细胞质稀疏含有较多的液泡。羽化后 7 天(产卵后期)，雌蛾的细胞核也转变成多角形或梭形，细胞形态与雄蛾一日龄的基本相同。

(三) 保幼激素类似物 ZR-515 对幼虫脂肪体的影响　用 ZR-515 20 微克点滴六龄一日龄幼虫体壁，再经饲养观察，结果发现处理组的幼虫期长达 15 天，比未经处理的对照组延长 4 天。将两组的九日龄幼虫进行切片观察，结果表明，处理组的脂肪体尚保持着"幼虫脂肪体"的特点，而对照组的脂肪体则已出现预蛹期的形式。

二、各虫期脂肪体蛋白含量的变化

小地老虎各虫期脂肪体蛋白含量的变动情况，分别在六龄幼虫、预蛹、蛹、预成虫(即蛹期第 13—14 天)、及成虫期进行测定的。结果如图 1 所示。

(一) 幼虫—预蛹期：从图 1 蛋白质含量变动曲线可看出，六龄幼虫从一日龄至五日龄期间，每克脂肪体的蛋白质含量稳定在 7.1—8.6 毫克之间，六日龄开始上升，至预蛹末期达峰值 (16.3 毫克)。

(二) 蛹期：供试蛹的历期共 14 天。当预蛹转变为蛹的第一天，脂肪体的蛋白质含

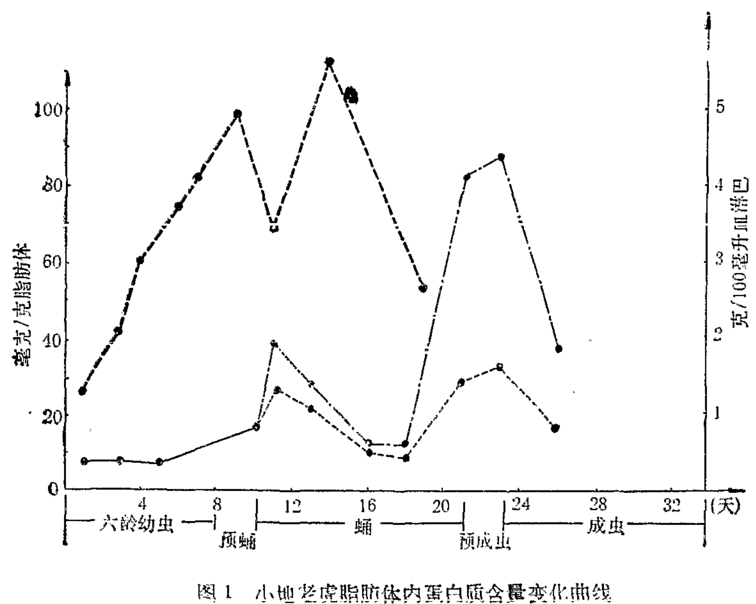


图 1　小地老虎脂肪体内蛋白质含量变化曲线

—·—·—　雌虫　--------　雄虫　————　幼虫—预蛹

---------　血淋巴蛋白含量（陈长琨等，1984）

量即迅速上升到峰值：雄蛹每克脂肪体增加到 26.5 毫克，是预蛹的 1.63 倍；雌蛹的增加量更为显著，达到 38.5 毫克，是预蛹的 2.4 倍。但从蛹期的第 2 天开始直至第 8 天，蛋白质含量直线下降，几乎降到六龄幼虫期的水平，其中雄蛹下降到 9.8 毫克，雌蛹下降到 11.7 毫克。至蛹后期（第 9—13 天），蛋白质含量再次猛增，雄蛹上升到 32.2 毫克，约增 3.3 倍，而雌蛹的增加量更大，达到 86.6 毫克，约增 7.4 倍。

（三）预成虫—成虫羽化后 3 天：　脂肪体内蛋白质含量又一次大幅度下降，雄虫由 32.2 毫克下降至 16 毫克，雌虫由 86.6 毫克下降到 37.7 毫克。

三、各虫期脂肪体细胞蛋白质颗粒的变化

（一）光镜观察结果　小地老虎各虫期在个体发育过程中脂肪体内蛋白质颗粒的直径和数量的变动情况列于表 1。从表 1 可明显地看出，幼虫期脂肪体内不存在蛋白质颗粒，主要进行的是蛋白质、糖类等物质的相互转化和中间代谢。至预蛹期，开始变态发育过程，幼虫的一些器官和组织进行解离和自溶，而“成虫器官芽”则开始进一步生长发育为成虫的结构和器官，幼虫型脂肪体也在逐步改组为成虫型脂肪体。在蛹龄 10—14 天内（包括 1—2 天预成虫期），雌蛹脂肪体内的蛋白质颗粒直径较大（3—8μm），数量较多，约占细胞横切面的 1/2 以上，而雄蛹的直径较小（2—6μm），数量较少，仅占细胞横切面的 1/2 以下。部分蛋白质颗粒对 PAS 试验呈阳性反应，说明大量的蛋白质颗粒中尚有一部分糖蛋白颗粒。预成虫羽化为成虫后，经 24 小时脂肪体内即无蛋白质颗粒，这一现象说明幼虫期贮存的蛋白质颗粒，均被转化为可被利用的各种蛋白质供应成虫发育卵巢或睾丸及其它结构之用。

（二）电镜观察结果

1. 幼虫期：五龄幼虫后期与六龄幼虫的脂肪体细胞，在亚细胞结构方面有很多相似

表 1　小地老虎各发育阶段脂肪体细胞内蛋白质颗粒的变化

虫期	蛋白质颗粒		PAS 反应
	直径（μm）	数量*	
幼虫	0	0	—
预蛹	3—11	++	+
蛹龄 1 天	3—11	+++	+
蛹龄 5 天	2—6	++	+
雌蛹蛹龄 10 天	3—8	+++	+
蛹龄 14 天	3—8	+++	+
雄蛹蛹龄 10 天	2—6	++	+
蛹龄 14 天	2—6	++	+
成虫	0	0	—

* “++”表示颗粒数量占脂肪体细胞横切面的 1/2 以下；“+++”表示颗粒数量占细胞横切面的1/2 以上。

的特征。例如，细胞核呈圆形至椭圆形，染色质块较少，核膜为明显的双层结构。细胞质内含有丰富的粗面内质网，排列成片层状，并因受到脂肪滴的挤压，以致形成很多扁平的池槽(见图版 II：10)，还有一些游离的核蛋白体分散在内质网附近。细胞质内的糖原颗粒和线粒体也较丰富。

2. 预蛹期：细胞核明显伸长，染色质凝聚成很多小团，核膜的双层结构模糊；粗面内质网、线粒体及核糖核蛋白体显著减少，而出现多种类型的蛋白质颗粒。根据蛋白质颗粒的组分和形成过程，可归纳为下列四种主要类型：

（1）由多个衰退的线粒体合并形成的颗粒：功能线粒体一般呈椭圆形，内具细而密的嵴，而衰退的线粒体电子密度高，内嵴变得模糊不清，随后，由多个衰退线粒体进行合并，形成蛋白质颗粒（图版 II：13)。在这类颗粒中，有时还可观察到残余线粒体的外形和内嵴，但无围膜。

（2）由内质网集聚形成的颗粒：首先由正常的内质网聚集成小团，然后内质网的局部膨大成囊状，电子密度增高，随后内质网小团大部分都出现膨大现象，形成外无围膜的颗粒(见图版 II：14、15)。

（3）由游离膜包围糖原和蛋白质微粒形成的糖蛋白颗粒：开始时，游离膜分别包围糖原和蛋白质微粒，然后两者再合并成糖蛋白颗粒，围膜上并可吸附一些蛋白质微粒（见图版 II：11)。

（4）由游离膜包围线粒体，粗面内质网及糖原形成的混合颗粒(见图版 II：16)。

讨　　论

通过对小地老虎变态各虫期脂肪体的形态结构变化、蛋白质含量的动态变动、以及蛋白质颗粒的形成和消失过程的系统观察和分析，可以明显地看出：脂肪体在虫体生长发育及变态过程中超微结构和细胞器的动态变化，是与不同虫期的特殊生理机制及与“幼虫脂肪体”改组为提供“成虫器官芽”发育成虫结构所需的各类蛋白质、脂类和糖类等化合物的“成虫脂肪体”，相互配合和适应的。

小地老虎幼虫期脂肪体的特殊形态结构和生长规律主要表现在下列几个方面：细胞

的体积不断增大，至六龄幼虫末期并突然增大到三龄期的 4.4 倍，横切面可达 1,222μm^2，说明这一龄期是虫体生长旺盛、充分吸取营养，脂肪体内中间代谢活跃并进行贮存蛋白质、脂类和糖类等化合物准备变态的阶段。从五龄到六龄的初期，脂肪体细胞的核分裂成双核及多核，但细胞质和细胞膜则无分裂过程出现，这一多核现象可能表明脂肪体在蜕皮和变态期以前需要合成更多的蛋白质及特殊的酶类所致。预蛹期最显著的特征是脂肪体细胞的核伸长并出现分枝状的异固缩染色质，表明细胞将进入不活动期，同时细胞质内则出现较多的嗜碱性蛋白质颗粒和很多糖蛋白颗粒。另一些脂肪体细胞内还出现尿酸颗粒。这些形态和生理变化都表明了预蛹即将进入化蛹变态期，同时也说明了预蛹期血淋巴蛋白含量增高的原因。

幼虫化蛹后，在蛹龄 5—10 天内，"幼虫脂肪体"逐步崩解，至蛹龄 12 天时转变为预成虫，并出现了充满蛋白质颗粒经重组的"成虫脂肪体"。对龄期 1—10 天的蛹进行脂肪体和血淋巴蛋白含量的系统分析结果也表明：小地老虎蛹的初期和末期，当脂肪体的蛋白质含量出现前后两次峰值时，正是血淋巴蛋白浓度下降到峰底值时。由此可见，蛹期的"幼虫脂肪体"在改组的过程中，一方面从血淋巴中吸取大量蛋白质(或氨基酸)形成贮存形式的蛋白质颗粒和糖蛋白颗粒，另一方面又释放出各类蛋白质供"成虫器官芽"发育成虫组织和结构之用。至于雌蛹和雄蛹脂肪体内存在的蛋白质颗粒数量的差异，很可能是由于雌蛹的后期已在合成具有糖蛋白性质的卵黄原蛋白的前体物所引起。但据作者(1984)的研究结果，卵黄原蛋白要在小地老虎成虫羽化后 3 天才释放入血淋巴，而在本试验中则发现成虫一经羽化，脂肪体内蛋白质颗粒在 24 小时内即全部消失，由于小地老虎蛾需要取得补充营养才能使卵子发育和沉积卵黄，因而推断蛹后期及预成虫期的蛋白质颗粒应仍是幼虫期贮存的氮素化合物，主要用于重组"成虫脂肪体细胞"的内质网、线粒体及细胞膜，以及供应体壁和气管等的皮细胞层(包括翅内的气管分支)分泌和沉积表皮层和螺旋丝等之用。小地老虎在预蛹期和蛹期的脂肪体细胞内形成的四种类型的蛋白质颗粒，其中很多颗粒是由衰退的线粒体、内质网或核糖核蛋白体集聚合并而成，另一部分颗粒则由游离膜分别包围糖原晶体和蛋白质微粒，然后再合并成糖蛋白颗粒。这些形成颗粒的过程与 Collins (1969、1970)，Walker (1966) 及 Locke (1965、1967、1968) 等人报道的其它鳞翅目昆虫的观察结果是一致的。同时也说明小地老虎的预蛹期和蛹期是"幼虫脂肪体"及其细胞基因组进行改组的过渡时期。在幼虫脂肪体改组为"成虫脂肪体"的过程中，除出现细胞膜破裂崩散及细胞核消失的现象以外，一部分离散的细胞则被血细胞吞噬，另有一部分细胞可进入肌原细胞参与肌肉组织的更新。幼虫脂肪体在变态过程中发生的这些变化，与 Wigglesworth (1972)，Keeley (1978) 及 Wyatt (1978) 等人对其它全变态昆虫的述评中指出的情况，也是一致的。因此，根据本试验的观察结果，我们认为小地老虎在胚后生长发育和变态的过程中，脂肪体可明显地区分为幼虫型和成虫型两类：蛹前期的脂肪体仍属于幼虫型，到蛹的后期幼虫型脂肪体崩解以后，才逐步组建成成虫型脂肪体，并启动成虫结构的基因组，供应成虫器官芽发育所需的各类蛋白质及其它重要化合物的前体物。用保幼激素类似物 ZR-515 处理六龄幼虫体壁后可使幼虫期延长 4 天并使九日龄幼虫的脂肪体仍保持在幼虫型的结果，不仅表明了 ZR-515 对整个虫体具有保幼效应，同时也证明了它对中胚层来源的幼虫脂肪体也有明显的持留作用，因而

能使幼虫的活动期适当延长。

参　考　文　献

陈长琨　王荫长等　1984 小地老虎在个体发育过程中血淋巴蛋白含量和类型变动的初步研究。南京农学院学报 1: 45—52。

藤条纯夫　1980　核酸、蛋白质、尿酸の分画分析法。«昆虫实验法——研究论» 第 13—28 页。

Buterworth, F. M. et al. 1967 Adipose tissue of *Drosophila melanogaster*-II. The effect of the adult internal environment on growth, protein disposition, and histolysis in the larva fat body. *J. Exp. Zool.* **164**: 251—66.

Chippendale, G. M. et al. 1969 Relationship between the proteins of the haemolymph and fat body during development of *Pieris brassicae. J. Insect Physiol.* **15**:905—26.

Chippendale, G. M. et al. 1970 Metamorphic changes in fat body proteins of the southwestern corn borer, *Diatraea grandiosella. J. Insect Physiol.* **16**: 1037—68.

Collins, J. V. 1969 The hormonal control of fat body development in *Calpodes ethlius* (Lepidoptera, Hesperiidae). *J. Insect Physiol.* **15**: 341—52.

Collins, J. V. 1970 Selective accumulation of haemolymph proteins by the fat body of *Galleria mellonella. J. Insect Physiol.* **16**: 1697—708.

Collins, J. V. 1974 Hormonal control of protein sequestration in the fat body of *Calpodes ethlius. Can. J. Zool.* **52**: 639—42.

Ishizaki, H. 1965 Electron microscopic changes in the subcellular organization during metamorphosis of the fat body cell of *Philosamia cynthia ricini* (Lepidoptera). *J. Insect Physiol.* **11**: 845—55.

Keeley, L. L. 1978 Endocrine regulation of fat body development and function. *Ann. Rev. Entomol.* **23**: 329—52.

Locke, M. and Collins, J. V. 1965 The structure and formation of protein granules in the fat body of an insect. *J. Cell Biol.* **26**: 857—84.

Locke, M. and Collins, J. V. 1967 Protein uptake in multivesicular bodies in the molt-intermolt cycle of an insect. *Science* **155**: 467—69.

Locke, M. and Collins, J. V. 1968 Protein uptake into multivesicular bodies and storage granules in the fat body of an insect. *J. Cell Biol.* **36**: 453—83.

Lowry, O. H. et al. 1951 Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265—75.

Thomasson, W. A. and Mitchell, H. K. 1972 Hormonal control of protein granule accumulation in fat bodies of *Drosophila melanogaster* larvae. *J. Insect Physiol.* **18**: 1885—99.

Walker, P. A. 1966 An electron microscope study of the fat body of the moth, *Philosamia* during growth and metamorphosis. *J. Insect Physiol.* **12**: 1009—18.

Wigglesworth, V. B. 1972 The Principles of Insect Physiology. pp. 442—7.

Wyatt, G. R. and Pan, M. L. 1978 Insect plasma proteins. *Ann. Rev. Biochem.* **47**: 779—817.

CHANGES OF THE FAT BODY OF BLACK CUTWORM DURING METAMORPHOSIS AND THE EFFECT OF JUVENILE HORMONE ANALOGUE

Chen Chang-kun　Wang Yin-chang　You Zi-ping

(Department of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing)

The changes in ultrastructure, protein content and protein granules in the fat body of the black cutworm *Agrotis ypsilon* (Rottemberg) were studied with microscopical, biochemical and histochemical methods. The stages observed included that of the larva in the fifth and sixth instars, prepupa, pupa and adult. The aim of this study is to lay down the physiological and biochemical bases for further studies on reproductive capacity, diapause and insecticide resistance of this species. The results are summarized as follows:

1. It was observed that the larval fat body gradually enlarged in size to form wide bands towards the late sixth instar. As the fat body cells grew, they became binucleat and multi-nucleate without cell division. The basophil protein granules in the cells began to appear during the prepupal stage; some of the cells were surrounded by phagocytes of the haemolymph and phagocytosis ensued. The larval fat body began to dissociate on the fifth day of pupal stage and disintegrated progressively throughout the sixth to tenth day. The outer connective tissue membrane of the whole fat body and the cell membranes disappeared and the pupa transformed into preimago on the thirteenth day. At this stage the fat body cells reappeared and began to gather around the tracheal branches to form flower-shaped globular bodies and finally reconstructed into chain-like adult fat bodies with cells filled with numerous protein granules. The well developed rough endoplasmic reticula and mitochondria present in the larval fat body cells degenerated in the prepupal and pupal stages, and than various small protein granules were formed in the preimago.

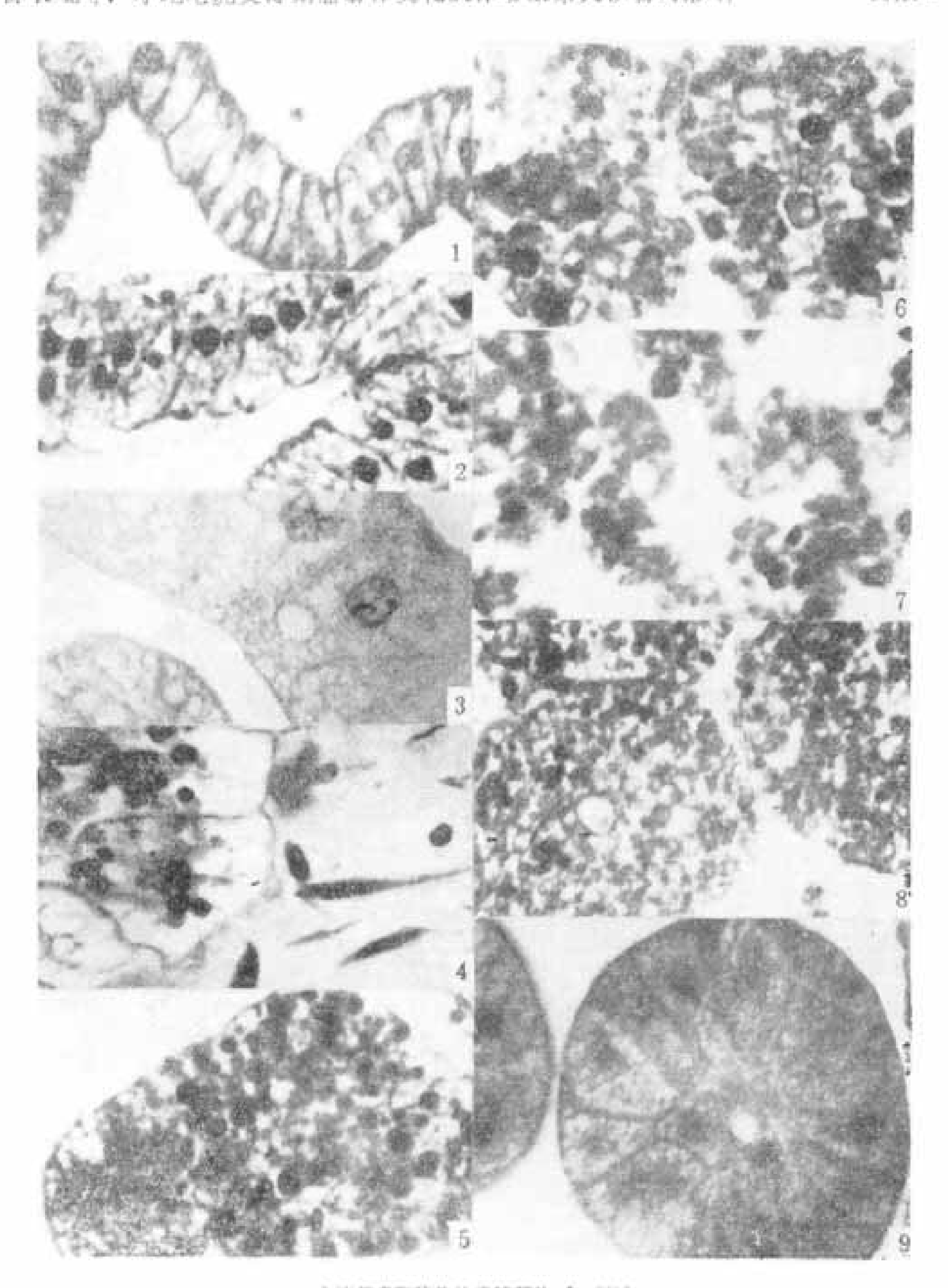
2. The protein content of larval fat body was quite constant within the range of 7.1—8.6 mg/g from the first day to the fifth day of the sixth instar, than increased gradually and finally reached a peak of 16.3 mg/g at the prepupal stage. When the prepupa developed into pupal stage, the protein content of fat body rose again, reached to about 1.6 and 2.4 times that of prepupal stage on the first day in the male and female pupa respectively, but dropped sharply down to the level of the sixth instar larva in the following seven days. When the pupae 9—13 day old, the protein content rose sharply again and reached to a peak of 32 mg/g and 87 mg/g in the male and female pupae respectively. In the adult stage, significant difference in the protein contents of fat bodies still existed between the male and female moths, being 2.4 times greater in the female moth though only about 43% of the maximal value of the female pupal stage.

3. When the larva developed into the motionless prepupal stage, protein granules began to appear within the fat body cells and retained at original position throughout the pupal stage in spite of the loss of cell boundary. The granules formed in these stages can be classified into four types in the electron micrograms, most of them contained the degenerated endoplasmic reticula, mitochondria or ribosomes, and some were protein crystals and glycoprotein granules surrounded by membranes. However, after the moth emerged all the fat body protein granules disappeared within 24 hours.

4. When the larvae in the sixth instar were treated topically each with 20 μg of juvenile hormone analogue ZR 515, the larval stage would be prolonged to 4 days more and the fat body of the 9 day old larva still remain in the larval form.

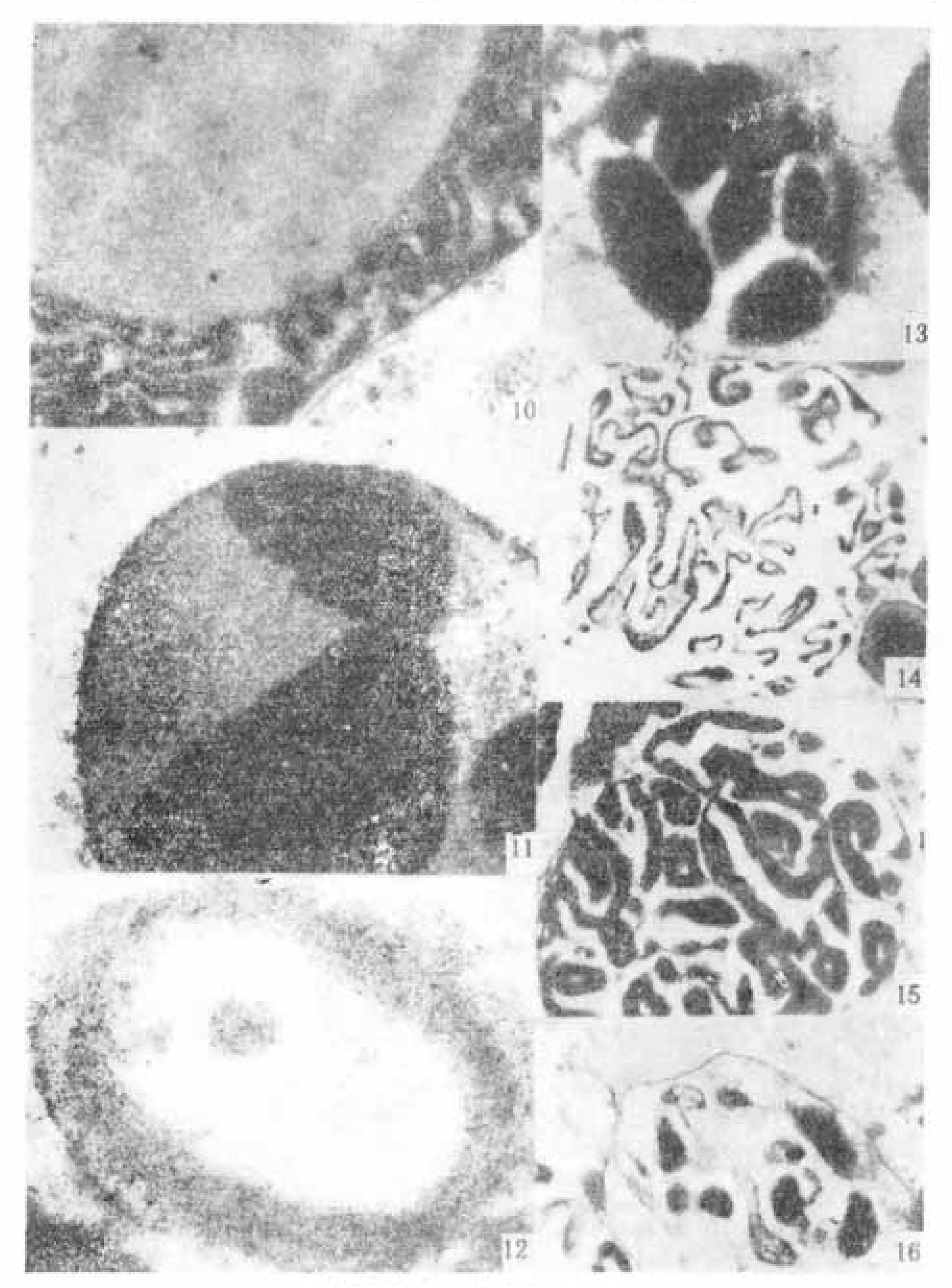
To sum up, the prepupal stage of the black cutworm seems to be the turning period of protein metabolism in the fat body. The larval fat body would dissociate and disintegrated from the fifth day to tenth day of the pupal stage. The pre-imago is the stage for rebullding the adult fat bodies around the tracheal branches.

Key words *Agrotis ypsilon* (Rottemberg))——fat body——protein granules——ultrastructure



小地老虎脂肪体的光镜照片（×600）

1．四龄幼虫，脂肪体带状　2．五龄幼虫末期，细胞内出现双核和多核现象　3．六龄幼虫，脂肪细胞明显增大，核清晰　4．预蛹期，细胞内出现蛋白质颗粒　5．蛹期一天，脂肪体呈块状，蛋白质颗粒大而密　6．蛹期五天，脂肪体围膜消失，细胞膜也消失　7．蛹期十天，脂肪体崩解　8．预成虫期，脂肪体细胞以气管为中心呈花朵状，细胞内充满蛋白质颗粒　9．雄虫羽化一天，脂肪体呈花朵状，蛋白质颗粒消失，细胞膜清晰，核圆形



小地老虎预蛹期蛋白质颗粒类型的电镜照片

图 10. 五龄幼虫，细胞内较大的脂滴，粗面内质网被挤压成扁平的油槽 ×39,000　图 11. 游离膜包围糖原和蛋白质微粒 ×21,000　图 12. 游离膜包围蛋白质微粒 ×28,000　图 13. 衰退的线粒体合并 ×22,000　图 14. 内质网集聚成团 ×10,800　图 15. 内质网膨大，电子密度增高 ×10,800　图 16. 游离膜包围线粒体、糖原、内质网 ×15,000